

# Dietary proteins and body weight regulation

Citation for published version (APA):

Hochstenbach-Waelen, A. (2010). *Dietary proteins and body weight regulation*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20100707ah>

**Document status and date:**

Published: 01/01/2010

**DOI:**

[10.26481/dis.20100707ah](https://doi.org/10.26481/dis.20100707ah)

**Document Version:**

Publisher's PDF, also known as Version of record

**Please check the document version of this publication:**

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

**General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

**Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

# Summary

Regulation of body weight implies a balance between energy intake and energy expenditure. Nowadays many people struggle with the balance between intake and expenditure as reflected in the increasing incidence of obesity, requiring strategies for weight loss and weight maintenance thereafter. Increasing dietary protein from a relatively normal to a relatively high protein intake affects both short- and long-term mechanisms of body weight regulation by increased satiety and increased thermogenesis during energy balance, sustained satiety and energy expenditure during negative energy balance, preservation of fat-free mass during negative energy balance, and lower energy efficiency during positive energy balance. Protein types differ in their amino acid composition and metabolism and thus may affect these mechanisms differently. Therefore several hypotheses were tested under normal and higher protein conditions with respect to appetite, energy expenditure, substrate balances, and body weight loss and maintenance, making use of different types of protein.

Regarding effects on appetite, we hypothesized that 1) a protein high in tryptophan (TRP) content ( $\alpha$ -lactalbumin) leads to a higher satiety response than a protein low in TRP content (gelatin), due to its higher TRP content; 2) an incomplete protein, i.e. gelatin, compared with a complete protein, i.e. casein, suppresses appetite when consumed in single-protein diets. Regarding effects on energy expenditure, we hypothesized that 1) a diet relatively high in casein/gelatin content results in higher energy expenditure, and higher satiety response, than a diet relatively normal in casein/gelatin content; 2) the use of an incomplete protein, i.e. gelatin, compared with a complete protein, i.e. casein, increases energy expenditure due to a surplus of amino acids that could not be used for protein synthesis. Regarding effects on substrate balance, we hypothesized that the use of an incomplete protein, i.e. gelatin, compared with a complete protein, i.e. casein, limits a positive protein balance when consumed in single-protein diets. Regarding effects on weight loss and weight maintenance, we hypothesized that the addition of gelatin to a milk protein diet will promote weight loss during a weight loss period and will improve weight maintenance during a 4-months weight maintenance period after weight loss.

The hypotheses were tested in subsequent studies. Three relatively normal single-protein breakfasts (10/55/35% of energy from protein/carbohydrate/fat), containing either  $\alpha$ -lactalbumin (high in TRP), gelatin (low in TRP) or gelatin with added TRP (gelatin+TRP, high in TRP), were consumed by healthy subjects according to subject-specific energy requirements and were compared on appetite and energy intake (**chapter 2**). Subsequent, relatively normal and high single-protein diets (10/55/35% and 25/55/20% of energy, respectively, from protein/carbohydrate/ fat), with casein or gelatin as protein source, were consumed by healthy subjects according to subject-specific energy requirements, and were compared with respect to their effects on 24-h energy expenditure, substrate balances and appetite (**chapter 3-5**). Last, a supra-sustained gelatin-milk protein (GMP, protein content: 50% milk protein and 50% gelatin) diet was compared with a sustained milk protein (SMP, protein content: 100% milk protein) diet and supra-sustained milk protein (SSMP, protein content: 100% milk protein) diet in overweight and obese subjects during an 8-wk weight loss period, followed by an 4 months weight maintenance period (**chapter 6 and 7**). Absolute protein intake was kept constant (sustained) per subject during the complete 6 months dietary intervention.

The  $\alpha$ -lactalbumin breakfast suppressed hunger more prolonged than the gelatin or gelatin+TRP breakfasts, but this could not be explained by differences found in TRP concentrations or TRP/LNAA ratios in the breakfasts or plasma. No significant correlation was found between the AUC of the hunger scores and the AUC of plasma tryptophan/LNAA ratios or plasma TRP concentrations following ingestion of  $\alpha$ -lactalbumin, gelatin or gelatin+TRP breakfasts. In the comparison between the incomplete protein gelatin and the complete protein casein, larger hunger suppression after gelatin than after casein was observed. We hypothesize that the difference in hunger suppression may relate to a mechanism observed in metazoans, where it was discovered that the tRNA/GCN2/p-eIF2 $\alpha$  system in the brain can detect a deficiency of indispensable amino acids in the diet from a decline in serum amino acid levels, leading to a behavioral response that rejects consumption of imbalanced diets and thus appears as hunger suppression. Finally, it was shown that the magnitude of the effect on appetite with increased protein content differs due to differences in amino acid composition of the diet, since the effect of an increased casein intake on appetite was stronger than the effect of an increased gelatin intake. Mechanisms contributing to effects on appetite may differ between protein types. Prolonged elevated concentrations of amino acids may have contributed to the higher satiety ratings with an increased casein intake, in agreement with the amino static theory of Mellinkoff

et al. In addition, changes in satiety and hunger were related to changes in sleeping metabolic rate (SMR) with the high-casein diet.

Energy expenditure (EE), i.e. 24-h EE and SMR, was higher with the relatively high-protein diet compared with the relatively normal-protein diet for both casein and gelatin. In addition, a complete protein (casein) and an incomplete protein (gelatin) induce similar effects on energy expenditure, regardless of consumption under relatively normal or high-protein feeding conditions. Contribution of mechanisms involved in postprandial protein metabolism, e.g. protein synthesis, protein oxidation, urea synthesis, and gluconeogenesis, depends on the amino acid composition of proteins, and therefore energy expenditure can be affected similarly or differently dependent on protein sources consumed. Regarding protein balances, under relatively normal as well as relatively high protein conditions, protein oxidation was higher with the gelatin than with the casein diets, resulting in lower protein balances. The absence or low amounts of certain essential amino acids in an incomplete protein are a limiting factor for postprandial protein synthesis. This suggests that protein oxidation contributed more to energy expenditure with gelatin, while the contribution of protein synthesis to energy expenditure is hypothesized to be higher with casein. Fat balances were not different between casein and gelatin under relatively normal as well as relatively high protein conditions, which suggests that differences in amino acid composition between protein types do not affect overall fat storage and oxidation. Carbohydrate balance was more positive with gelatin than with casein under relatively high protein conditions. We hypothesize that part of the explanation for this effect is an increased gluconeogenesis with the gelatin diet, which is directed to glycogen storage, and which is due to an increase in free amino acids that are not used for protein synthesis.

Addition of gelatin to a sustained milk protein diet does not improve weight loss and body composition more during a weight loss period and does not result in a better weight maintenance period after weight loss compared with a sustained or supra-sustained milk protein diet. This shows that effects of proteins observed in the short-term do not necessarily result in similar effects in the long-term. The sustained and both supra-sustained protein diets all resulted in a successful weight loss and complete weight maintenance thereafter, while a protein intake of 0.8 g/kg per day of milk protein is sufficient to achieve this.

In conclusion, 1) the tryptophan/LNAA ratio in the plasma is not directly linked to appetite via the serotonin-pathway; 2) gelatin suppresses hunger more than casein, when consumed as a single-protein diet for one day; 3) higher satiety ratings under high-casein, compared with normal-casein, conditions coincide with prolonged elevated concentrations of amino acids, which contribute to satiety according to the 'the amino static theory'; 4) increased satiety ratings under high-casein conditions relate to increases in sleeping metabolic rate; 5) the contributions of mechanisms to increased energy expenditure with increased protein content differ between a complete protein (casein) and incomplete protein (gelatin). Protein synthesis contributes more to increased energy expenditure with a complete protein, while protein oxidation contributes more with an incomplete protein; 6) an incomplete protein (gelatin) results in a lower protein balance than a complete protein (casein), because of a higher protein oxidation together with lower, limited, protein synthesis; 7) carbohydrate balance is higher with an incomplete protein under relatively high protein conditions, suggesting to be partly explained by increased gluconeogenesis; 8) fat balances are not affected differently between conditions with an incomplete or complete protein diet; 9) short-term effects of protein diets do not necessarily result in similar effects in the long-term; 10) a minimum required daily protein intake from milk protein is sufficient for successful weight loss and maintenance, while addition of gelatin does not improve this.



# Samenvatting

Regulatie van het lichaamsgewicht houdt in dat er een balans moet zijn tussen energie-inname en energiegebruik. Gezien de toename van de incidentie van overgewicht en obesitas gedurende de laatste drie decennia, hebben veel mensen moeite met het handhaven van deze balans. Dit betekent dat er wetenschappelijk onderbouwde strategieën nodig zijn om gewicht te verliezen en daarna dit gewicht te behouden. Een relatieve verhoging van de hoeveelheid eiwit in het dieet beïnvloedt zowel de korte als de lange termijn mechanismen voor lichaamsgewichtregulatie. Deze zijn een toename in verzadiging en energiegebruik in energiebalans, het handhaven van verzadiging en energiegebruik in negatieve energiebalans, het behouden van de vetvrije massa in negatieve energiebalans, en een lagere energetische efficiëntie in positieve energiebalans. Eiwitten verschillen in hun aminozuursamenstelling en metabolisme, waardoor zij verschillen in deze mechanismen. Hieruit volgen verschillende hypothesen gericht op eetlust, energiegebruik, substraatbalans en verlies en behoud van lichaamsgewicht. Deze werden getoetst voor verschillende eiwitten onder condities van normale en relatief hoge eiwitinname.

Met betrekking tot de effecten op eetlust werden de volgende hypothesen getoetst: 1) Een eiwit met een hoog tryptofaan (TRP)-gehalte ( $\alpha$ -lactalbumine) resulteert in een hogere verzadiging dan een eiwit met een laag TRP-gehalte (gelatine) ten gevolge van het hogere TRP-gehalte; 2) een incompleet eiwit (gelatine) onderdrukt de eetlust meer dan een compleet eiwit (caseïne) als deze in een dieet worden genuttigd bestaande uit slechts één eiwitsoort. Met betrekking tot de effecten op energiegebruik werden de volgende hypothesen getoetst: 1) Een dieet met een relatief hoog caseïne/gelatinegehalte resulteert in een hoger energiegebruik, en hogere verzadiging, dan een dieet met een relatief laag caseïne/gelatinegehalte; 2) het nuttigen van een incompleet eiwit (gelatine) in vergelijking met een compleet eiwit (caseïne) verhoogt het energiegebruik door een overschot aan aminozuren die niet gebruikt kunnen worden voor eiwitsynthese. Met betrekking tot de effecten op substraatbalans werd de hypothese getoetst dat het nuttigen van een incompleet eiwit (gelatine) in vergelijking met een compleet eiwit (caseïne) een positieve eiwitbalans beperkt als deze in een dieet worden genuttigd bestaande uit slechts één eiwitsoort. Met betrekking tot de effecten op gewichtsverlies en gewichtsbehoud werd de hypothese getoetst dat het toevoegen van gelatine aan een melkeiwitdieet gewichtsverlies zal bevorderen gedurende een gewichtsverliesperiode, en na deze periode gewichtsbehoud zal bevorderen gedurende een periode van 4 maanden waarin naar gewichtsbehoud wordt gestreefd.

Hiertoe werden de volgende studies uitgevoerd. Drie ontbijten met een relatief normaal eiwitgehalte (10/55/35 energieprocenten van eiwit/koolhydraat/vet) bestaande uit slechts één eiwitsoort, namelijk  $\alpha$ -lactalbumine (hoog in TRP), gelatine (laag in TRP) of gelatine met toegevoegd TRP (gelatine+TRP, hoog in TRP), werden genuttigd door gezonde proefpersonen op basis van proefpersoonsspecifieke energiebehoeftes. De drie ontbijten werden vergeleken ten aanzien van hun effecten op eetlust en energie-inname (**hoofdstuk 2**). Vervolgens werden diëten met een relatief normaal of hoog eiwitgehalte (respectievelijk 10/55/35 of 25/55/20 energieprocenten van eiwit/koolhydraat/vet) bestaande uit slechts één eiwitsoort, namelijk caseïne of gelatine, genuttigd door gezonde proefpersonen op basis van proefpersoonsspecifieke energiebehoeftes. De diëten werden vergeleken ten aanzien van hun effecten op 24-uurs energiegebruik, substraatbalans en eetlust (**hoofdstuk 3-5**). Tenslotte werden drie verschillende eiwitdiëten genuttigd door proefpersonen met overgewicht en obesitas gedurende een gewichtsverliesperiode van 8 weken, gevolgd door een periode van 4 maanden waarin werd gestreefd naar gewichtsbehoud (**hoofdstuk 6 en 7**). Gedurende de hele periode van 6 maanden werd de absolute dagelijkse eiwitinname voor elke proefpersoon constant gehouden. Deze was gelijk aan de aanbevolen dagelijkse hoeveelheid eiwitinname (het SMP-dieet, waarvan het eiwitgehalte voor 100% uit melkeiwit bestond) of een hogere inname dan deze aanbevolen dagelijkse hoeveelheid eiwitinname (het SSMP-dieet, waarvan het eiwitgehalte voor 100% uit melkeiwit bestond, of het GMP-dieet, waarvan het eiwitgehalte voor 50% uit melkeiwit en 50% uit gelatine bestond). Het gelatinedieet werd vergeleken met beide melkeiwitdiëten met betrekking tot effecten op gewichtsverlies en gewichtsbehoud.

Het  $\alpha$ -lactalbumine-ontbijt onderdrukte de honger meer gedurende langere tijd dan de gelatine- en gelatine+TRP-ontbijten. Echter, dit kon niet worden verklaard door waargenomen verschillen in TRP-concentraties of TRP/LNAA-verhoudingen in de ontbijten of het bloedplasma. Er werd geen significante correlatie gevonden tussen de AUC van de hongerscores en de AUC van de TRP/LNAA-verhoudingen of TRP-concentraties in het bloedplasma na het nuttigen van het  $\alpha$ -lactalbumine-, gelatine- of gelatine+TRP-ontbijt. In de vergelijking tussen het incomplete eiwit gelatine en het complete eiwit caseïne, onderdrukte gelatine de honger meer dan caseïne.

Onze verklaring is dat het verschil in hongeronderdrukking gerelateerd zou kunnen zijn aan een mechanisme dat is waargenomen in metazoa. Hierbij werd ontdekt dat het tRNA/GCN2/p-eIF2 $\alpha$ -systeem in de hersenen een gebrek aan essentiële aminozuren in het dieet kan detecteren door middel van een afname aan aminozuurgehalten in het serum. Dit leidt tot een gedragsrespons die het nuttigen van niet gebalanceerde diëten tegengaat, wat als hongeronderdrukking kan worden ervaren. Tenslotte werd gevonden dat de grootte van het effect op eetlust bij een verhoogde eiwitinname verschilt ten gevolge van verschillen in aminozuursamenstelling van het dieet, aangezien het effect van een verhoogde caseïne-inname groter was dan het effect van een verhoogde gelatine-inname. Mechanismen die bijdragen aan de effecten op eetlust kunnen mogelijk verschillen tussen eiwitsoorten. Langdurig verhoogde aminozuurconcentraties hebben mogelijk bijgedragen aan de hogere verzadiging bij een verhoogde caseïne-inname, wat in overeenstemming is met de 'aminostatistische theorie' van Mellinkoff et al. Verder waren veranderingen in honger en verzadiging gerelateerd aan veranderingen in het slaapmetabolisme bij het dieet met een hoog caseïnegehalte.

Voor zowel caseïne als gelatine was het energiegebruik, d.w.z. het 24-uurs energiegebruik en het slaapmetabolisme, hoger bij het dieet met een relatief hoog eiwitgehalte ten opzichte van het dieet met een normaal eiwitgehalte. Bovendien hebben een compleet eiwit (caseïne) en een incompleet eiwit (gelatine) vergelijkbare effecten op energiegebruik, ongeacht of deze genuttigd worden onder condities van een relatief normale of een relatief hoge eiwitinname. De mechanismen die betrokken zijn bij het postprandiale eiwitmetabolisme (b.v. eiwitsynthese, eiwitoxidatie, ureumsynthese en gluconeogenese) zijn afhankelijk van de aminozuursamenstelling van de eiwitten. Afhankelijk van de genuttigde eiwitsoorten kan het energiegebruik daarom vergelijkbaar of verschillend beïnvloed worden. Met betrekking tot eiwitbalansen werd gevonden dat, ongeacht of de diëten genuttigd werden onder condities van een relatief normale of relatief hoge eiwitinname, de eiwitoxidatie hoger is bij gelatinediëten dan bij caseïnediëten, wat resulteert in lagere eiwitbalansen. De afwezigheid of de lage hoeveelheden van bepaalde essentiële aminozuren in een incompleet eiwit zijn een beperkende factor voor postprandiale eiwitsynthese. Dit suggereert dat bij gelatine eiwitoxidatie meer bijdraagt aan het energiegebruik, terwijl bij caseïne eiwitsynthese meer lijkt bij te dragen aan het energiegebruik. Onder condities van zowel een relatief normale als een relatief hoge eiwitinname verschillen de vetbalansen niet tussen gelatine en caseïne. Dit suggereert dat verschillen in aminozuursamenstelling tussen eiwitsoorten geen invloed hebben op de totale vetopslag en vetoxidatie. Bij een relatief hoge eiwitinname was de koolhydraatbalans meer positief bij gelatine dan bij caseïne. Dit effect kan gedeeltelijk worden verklaard doordat bij het gelatinedieet de vrije aminozuren toenemen, omdat deze niet gebruikt kunnen worden voor eiwitsynthese, waardoor de gluconeogenese toeneemt en de gevormde glucose vervolgens als glycogeen wordt opgeslagen.

Het toevoegen van gelatine aan een melkeiwitdieet dat gebaseerd is op de aanbevolen dagelijkse hoeveelheid eiwitinname, zorgt niet voor een hoger gewichtsverlies of betere lichaamssamenstelling gedurende een gewichtsverliesperiode en zorgt niet voor een beter gewichtsbehoud gedurende de periode na gewichtsverlies in vergelijking met melkeiwitdiëten die gebaseerd zijn op de aanbevolen dagelijkse hoeveelheid eiwitinname of een verhoogde inname hiervan. Dit laat zien dat waargenomen effecten van eiwitten op de korte termijn niet vanzelfsprekend resulteren in vergelijkbare effecten op de lange termijn. De drie diëten (beide melkeiwitdiëten en het melkeiwitdieet waaraan gelatine was toegevoegd) resulteerden in een succesvol gewichtsverlies en volledig gewichtsbehoud daarna, terwijl een inname van melkeiwit van 0.8 g/kg per dag voldoende is om dit resultaat te bereiken.

Samengevat hebben deze onderzoeken geleid tot de volgende conclusies: 1) De TRP/LNAA-verhouding in het plasma is niet direct gerelateerd aan eetlust via het serotoninesysteem; 2) gelatine onderdrukt de honger meer dan caseïne als deze in een 1-daags dieet worden genuttigd bestaande uit slechts één eiwitsoort; 3) de hogere verzadiging bij een hoge caseïne-inname, vergeleken met een normale caseïne-inname, valt samen met langdurig verhoogde aminozuurconcentraties, die volgens de 'aminostatistische theorie' bijdragen aan verzadiging; 4) toename in verzadiging is gerelateerd aan toename in het slaapmetabolisme bij een dieet met een hoog caseïnegehalte; 5) de bijdragen van mechanismen aan een toegenomen energiegebruik bij een verhoogde eiwitinname verschillen tussen een compleet eiwit (caseïne) en een incompleet eiwit (gelatine). Eiwitsynthese draagt meer bij aan een verhoogd energiegebruik bij een compleet eiwit, terwijl eiwitoxidatie meer bijdraagt bij een incompleet eiwit; 6) een incompleet eiwit (gelatine) resulteert in een lagere eiwitbalans dan een compleet eiwit (caseïne) ten gevolge van een hogere eiwitoxidatie in samenhang met een lagere,



beperkte, eiwitsynthese; 7) bij een relatief hoge eiwitinname is de koolhydraatbalans hoger bij een incompleet eiwit, waarbij de suggestie is dat dit gedeeltelijk verklaard kan worden door een toegenomen gluconeogenese; 8) het effect op vetbalans is niet verschillend tussen het nuttigen van een compleet of incompleet eiwit; 9) effecten van eiwitdiëten op de korte termijn resulteren niet vanzelfsprekend in vergelijkbare effecten op de lange termijn; 10) een inname van melkeiwit gelijk aan de minimaal aanbevolen dagelijkse eiwitinname is voldoende voor een succesvol gewichtsverlies en gewichtsbehoud erna, terwijl het toevoegen van gelatine dit resultaat niet verbetert.